

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K17287

研究課題名(和文) 脂肪細胞の分化およびアディポカイン作用に関わるヒト特異的分子の探索

研究課題名(英文) Search for human-specific molecules involved in adipocyte differentiation and adipokine action

研究代表者

栗林 恭子 (Kuribayashi, Kyoko)

愛媛大学・医学部附属病院・助教(病院教員)

研究者番号：60579952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトとマウスで作用・発現が異なるアディポカイン(脂肪細胞から分泌される生理活性物質)や、ヒト特異的脂肪細胞分化機序が報告されており、従来のマウスモデルを用いた肥満研究はヒトへの臨床応用に必ずしも直結するとは限らない。そこで本研究では、ヒトとマウスの前駆脂肪細胞株を用いて、脂肪細胞分化過程で発現変動する遺伝子の違いを経時的に解析した。結果、ヒトとマウスでは種々の遺伝子で異なる発現変化を示し、ヒト特異的に発現増加する遺伝子が存在することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られたヒトとマウスでの脂肪細胞分化に伴う変動遺伝子のプロファイリングは、ヒト特異的肥満研究の新たなアプローチとして利用できる。さらに研究が進展し、ヒトに近い脂肪細胞を持つ遺伝子改変マウスの作成が可能になれば、ヒトの肥満をより正確に再現することが可能になり、ヒトに有効で安全な新薬の開発、臨床応用が進展するものと期待される。したがって本研究は、肥満ならびに肥満に関連したメタボリックシンドロームの予防・治療へと発展させていく基盤を構築するものである。

研究成果の概要(英文)：Adipokines (bioactive substances secreted by adipocytes) that differ in action and expression between humans and mice, as well as human-specific adipocyte differentiation mechanisms, have been reported. Therefore, conventional obesity research using mouse models does not necessarily lead directly to clinical application in humans. In this study, we used human and mouse preadipocyte cell lines to analyze the differences in gene expression during adipocyte differentiation. The results showed that various genes were differentially expressed between human and mouse. There were genes whose expression was increased specifically in humans.

研究分野：矯正歯科

キーワード：脂肪細胞分化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでに我々の研究グループは、新規アディポカインとして同定された D-dopachrome tautomerase (DDT) の機能解析で、以下の内容を報告している。

DDT はインスリン抵抗性を改善する善玉アディポカインである (*PLoS One*, 2012; 7(3):e33402)。

DDT のインスリン抵抗性改善機序 (*PLoS One*, 2012; 7(3):e33402)。

脂肪細胞分化抑制作用 (*Cytokine*, 2012; 60(3):772-777)。

しかしながら、マウスでの DDT の機能解析結果は、ヒトとは異なっていた。

脂肪細胞特異的 DDT 発現マウスに高脂肪食を与え肥満化させた際、野生型と比較しても体重、脂肪量に差が認められなかった。

マウス前駆脂肪細胞株 3T3-L1 では DDT による脂肪細胞分化抑制作用は認められなかった。

これらの結果より、DDT の作用と DDT が関与する脂肪細胞分化機序がヒトとマウスとは異なる可能性が示唆された。他に、ヒトとマウスにおけるアディポカインの作用および脂肪細胞分化機序の違いに関して幾つかの報告がある。

ヒトとマウスにおける脂肪細胞分化機序の違いに関して：

ヒト前駆脂肪細胞の脂肪細胞分化過程においては、活性型のグルココルチコイドにより LIM domain only 3 (LMO3) の発現が誘導され、脂肪細胞分化制御因子である PPAR γ の転写を促進するが、マウスでは LMO3 のプロモータ領域にグルココルチコイド応答領域が存在せず、脂肪細胞分化には関与しないことが報告されている (*Cell Metabolism*, 2013; 18:62-74)。

また、予備実験において DDT の脂肪細胞分化抑制機序への LMO3 の関与が示唆されていた。以上のことから、DDT を含むあらゆるアディポカインの作用と脂肪細胞分化機序には、ヒト・マウス間に差異があることが示唆された。

2. 研究の目的

ヒト前駆脂肪細胞とマウス前駆脂肪細胞を用いて、DDT 及び主なアディポカインのヒト・マウス間の作用の違い、さらにヒト・マウス間の脂肪細胞分化の分子機序の違いを検討することにより、ヒト特異的な肥満機序の解明に迫ることが本研究の目的である

3. 研究の方法

ヒト特異的脂肪細胞分化遺伝子の解析

ヒト患者皮下脂肪組織由来前駆脂肪細胞株 SGBS 細胞とマウス皮下脂肪由来前駆脂肪細胞株 3T3-L1 細胞を分化誘導培地を用いて、脂肪細胞に分化誘導させてから、0 日目 (前駆脂肪細胞で発現する遺伝子の比較)、1 日目 (誘導初期に関わる遺伝子の比較)、3 日目 (誘導後期に関わる遺伝子の比較)、7 日目 (成熟脂肪細胞で発現する遺伝子の比較) の total RNA を抽出し DNA マイクロアレイ解析を行った。

0 日目の細胞と比較して変動している遺伝子を網羅的に探索し、ヒトとマウスで変動が異なる遺伝子の同定を試みた。

4. 研究成果

ヒトとマウスでは種々の遺伝子で異なる発現変化を示した。また、SGBS 細胞において、分化 0 日目と比較し、1 日目、3 日目、7 日目のいずれかで 2 倍以上変動したのは 1461 遺伝子、5 倍以上変動したのは 406 遺伝子、10 倍以上変動したのは 185 遺伝子、20 倍以上変動したのは 105 遺伝子であった。20 倍以上変動が認められた 105 遺伝子のうち分化 1 日目から 7 日目まで日数依存的に発現が上昇を示したものが 59 遺伝子、分化 1 日目で発現のピークを認めたものが 13 遺伝子、分化 3 日目で発現のピークを認めたものが 30 遺伝子あった。さらに 3T3-L1 細胞で分化誘導に伴い発現が 20 倍以上変動した遺伝子と 43 遺伝子が重複していた。

脂肪細胞分化に関与する既知の制御因子である C/EBP α 、C/EBP β 、C/EBP δ 、PPAR γ 、KLF5、KLF15 の発現変動に着目し、ヒトとマウスで以下の結果を得た。

ヒトでは分化初期に関わる C/EBP β の増加が分化 1 日目 (2.7 倍)、3 日目 (3 倍) で認められたが、C/EBP δ の発現は認められなかった。一方、マウスでは分化の全過程において C/EBP δ の一定の発現 (約 10 倍) が認められ、C/EBP β の発現は認められなかった。また、分化後期に関与する C/EBP α は、ヒトで分化 3 日目から増加し (24 倍)、7 日目 (67 倍) で最大の発現を示したのに対し、マウスでは、7 日目のみに若干の発現 (3 倍) を認めただけであった。PPAR γ の発現は、ヒトでは 1 日目で 5.8 倍、3 日目で 17 倍、7 日目で 19 倍と顕著な増加を示したのに対し、マウスでは 1 日目で 2.2 倍、3 日目で 2.9 倍、7 日目で 5.3 倍であり、ヒトと比較し低値であった。KLF5 に関しては、マウス特異的に発現増加を認め、分化に伴い 4.9 倍まで増加を示した。一方、KLF15 については、ヒト特異的に発現増加を認め 1 日目で 10 倍、3 日目で 16 倍、7 日目で 11 倍

を示した。マウスでは7日目に2.2倍の増加を示したが、1,3日目での発現増加は認められなかった。

過去の報告との比較

肥満マウスで分泌増加が見られるレジスチンは、マウス成熟脂肪細胞において発現上昇が認められたが、ヒトでは全過程において発現が認められず過去の報告と一致していた。一方、LMO3は、マウスでの発現は認められずヒト特異的な発現を示し、分化1日目で22倍、3日目で44倍と上昇し、7日目で6.6倍まで減少した。また、脂肪細胞分化の全過程においてヒトで高発現があり、マウスにおいて発現のない遺伝子に着目したところ、ADH1B (alcohol dehydrogenase 1B) 遺伝子の発現を確認した。ADH1Bはヒト細胞株の分化1日目で96倍、3日目で390倍、7日目で250倍と高発現を示し、LMO3同様に分化3日目の発現が最も高かった。最近の報告で、ヒトでのADH1Bの発現量は脂肪細胞の分化に伴い増加し、痩せ型で成熟脂肪細胞における発現量が高く、肥満では少ないことが報告されている(Scientific Reports, 2021; 21;11(1)1932)。このようなことから、ADH1Bはヒト特異的に発現する肥満抑制の新規候補遺伝子である可能性が示唆された。

本研究結果より、ヒト・マウス間では、脂肪細胞分化に伴う関連遺伝子発現の差異が多く、ヒト特異的に発現増加する遺伝子が存在することが明らかとなった。以上のマイクロアレイのデータは今後のヒトにおける肥満研究にとって有用な情報となると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Iwata Takeo, Kuribayashi Kyoko, Nakasono Masahiko, Saito-Tarashima Noriko, Minakawa Noriaki, Mizusawa Noriko, Kido Rie, Yoshimoto Katsuhiko	4. 巻 96
2. 論文標題 The AMPK/mTOR pathway is involved in D-dopachrome tautomerase gene transcription in adipocytes differentiated from SGBS cells, a human preadipocyte cell line	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cytokine	6. 最初と最後の頁 195 ~ 202
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cyto.2017.04.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究協力者	岩田 武男 (Iwata Takeo)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関